



TITLE:

piRNA-seqに基づいた、プラナリア  
多能性幹細胞システムにおける  
DjpiwiB遺伝子の機能解析(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

鹿島, 誠

---

CITATION:

鹿島, 誠. piRNA-seqに基づいた、プラナリア多能性幹細胞システムにおけるDjpiwiB遺伝子の機能解析. 京都大学, 2016, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19540>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により本文は2019-06-12に公開; 許諾条件により要約は2016-06-23に公開; 許諾条件により要旨は2016-06-23に公開

( 続紙 1 )

京都大学	博 士 ( 理 学 )	氏名	鹿 島 誠
論文題目	piRNA-seqに基づいた、プラナリア多能性幹細胞システムにおけるDjpiwiB 遺伝子の機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>プラナリアの幹細胞で特異的に発現する <i>DjpiwiB</i> 遺伝子を RNA 干渉法(RNAi)によって機能阻害すると再生不全を起こすことが知られていた。しかし、再生不全を起こした個体において幹細胞の数は減っていないこと、また幹細胞は正常に分裂していること、さらに再生不全を起こした後になってから幹細胞が減少することが判明し、なぜ <i>DjpiwiB</i> 遺伝子機能阻害個体では再生不全になるのか全く謎のままであった。</p> <p>PIWI ファミリータンパク質は短い RNA(piRNA と呼ばれる)と結合することで、RNA と相補的な配列を持つ標的遺伝子をサイレンシングすることが知られていることから、本研究はプラナリア DjPiwiB タンパク質が結合している piRNA 配列を取得することで、その標的遺伝子を明らかにし、<i>DjpiwiB</i> 遺伝子機能阻害個体で再生不全に陥る原因を明らかにすることを目的とした。</p> <p>具体的には、抗 DjPiwiB 抗体を用いた免疫沈降法によって、DjPiwiB 結合 piRNA を精製し、次世代シーケンサーによって piRNA の配列を決定し、バイオインフォマティクスによって標的遺伝子候補をリストアップした。その結果、DjPiwiB タンパク質の主たる標的遺伝子は転移因子であることが明かとなった。実際、<i>DjpiwiB</i> 遺伝子機能阻害個体では DjPiwiB タンパク質が標的としている転移因子の大幅な発現上昇が見られた。次に、標的の一つである <i>gypsy-P1</i> レトロトランスポゾンを用いて、その発現上昇を whole mount in situ hybridization によって解析した。すると、コントロール個体では <i>gypsy-P1</i> の発現は完全に抑制されているのに対し、<i>DjpiwiB</i> 機能阻害個体では <i>gypsy-P1</i> を強く発現する細胞が検出された。しかし、驚くべきことに、<i>gypsy-P1</i> レトロトランスポゾンの強い発現が検出されたのは、幹細胞ではなく、DjPiwiB 陰性の分化中の細胞だった。<i>DjpiwiB</i> 機能阻害個体で発現が上昇する他の転移因子に関しても同様の結果が得られた。<i>DjpiwiB</i> 機能阻害個体では、幹細胞が分化を開始すると転移因子が暴れて細胞が死に至ることが判明した。すなわち、幹細胞から保持される DjPiwiB-piRNA 複合体が、分化過程における転移因子の抑制に不可欠であり、<i>DjpiwiB</i> 機能阻害個体で幹細胞の異常がないにもかかわらず、分化開始した細胞が死ぬことによって再生不全に陥ることが明らかとなった。</p> <p>シーケンス解析の結果、DjPiwiB タンパク質は、転移因子以外にも標的遺伝子を持つことが明かとなった。具体的には、細胞周期関連遺伝子や分化中の細胞で特異的に発現する遺伝子の幹細胞での発現抑制をかけることで、幹細胞の制御をしていることも明らかとなった。これらの標的遺伝子の幹細胞での発現変化が、<i>DjpiwiB</i> 機能阻害個体で再生不全後に生じる幹細胞の減少に寄与していることが推察された。このように、本研究は、成体多能性幹細胞システムにおける PIWI-piRNA 複合体の多様な役割について初めて明らかにすることに成功した。</p>			

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、piRNAのシーケンスを調べ、DjPiwiBタンパク質の標的遺伝子を明らかにすることで、DjPiwiBタンパク質の機能を解明した優れた研究である。その結果、それまで、全く理解不能であった、*DjpiwiB*遺伝子機能阻害個体が再生不全になる理由が明らかになった点は大きい。転移因子が暴れること自体は新しい発見ではないものの、転移因子が、分化を開始した細胞で暴れるようになることを見出したことで、理解不能だった原因が明らかになった点が高く評価できるとともに、幹細胞から分化細胞へ位相シフトする段階で、大きな核内構造の再編成が起きていることを示唆した点も評価したい。また、転移因子以外の標的遺伝子を同定したことで、幹細胞そのものにおけるPIWI-piRNA複合体の機能を見出すとともに、*DjpiwiB*遺伝子機能阻害個体において検出された幹細胞異常の原因についても推察できるようになった点も意義あるものと思われる。本研究によって、全く謎だった*DjpiwiB*遺伝子機能阻害個体で見出された異常原因がほぼ明らかにされたと考えられる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年1月13日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：平成28年6月23日以降